

⑫ 特 許 公 報 (B 2)

平1-35664

⑬ Int. Cl.⁴

A 61 L 15/01

識別記号

庁内整理番号

6779-4C

⑭ 公告 平成1年(1989)7月26日

発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 コラーゲン質包帯材

⑯ 特 願 昭56-156320

⑰ 公 開 昭58-41559

⑱ 出 願 昭56(1981)10月2日

⑲ 昭58(1983)3月10日

優先権主張 ⑳ 1980年10月3日㉑西ドイツ(DE)㉒P3037513.4

㉓ 発 明 者 アクゼル・シュテムバ
ーガードイツ連邦共和国8014ノイビベルグ・クラマー・クレッ
ト・シュトラッセ35e㉔ 出 願 人 ドクター・ルーラン
ト・ナハフオルガー・
ゲーエムベーハードイツ連邦共和国8425ノイシュタット/ドナウ・シュタツ
トブラッ7㉕ 代 理 人 弁理士 厚田 桂一郎
審 査 官 近 藤 兼 敏

1

⑳ 特許請求の範囲

- 1 フィブリノーゲン、SH基で改質されたゼラチン、SH基で改質されたコラーゲンおよびSH基で改質された再生オキシセルロースからなる群より選ばれた再吸収性生体高分子を0.5~10mg/cm²の範囲で含有し、かつ、コラーゲンの純度が窒素-ヒドロキシプロリン係数で4未満であることを特徴とする、組織癒着性コラーゲン質包帯材。
- 2 薬理活性剤を更に含有する、特許請求の範囲第1項に記載のコラーゲン質包帯材。
- 3 薬理活性剤が抗生物質である、特許請求の範囲第2項に記載のコラーゲン質包帯材。
- 4 抗生物質がゲンタマイシンである、特許請求の範囲第3項に記載のコラーゲン質包帯材。
- 5 コラーゲンが布の形態である、特許請求の範囲第1項から第4項までのいずれかに記載のコラーゲン質包帯材。
- 6 コラーゲンがスポンジの形態である、特許請求の範囲第1項から第5項までのいずれかに記載のコラーゲン質包帯材。
- 7 コラーゲンの純度が窒素-ヒドロキシプロリン係数で3未満である、特許請求の範囲第1項に記載のコラーゲン質包帯材。

発明の詳細な説明

コラーゲンはかなりの期間外科治療で使用され

2

- 5 てきている。このものはスポンジ、あるいは繊維の形で出血を抑制するのに使用することができ、適正に改良されたものは傷口の治癒の促進にも適している。しかしながら、凝血機構に欠陥のある患者の場合、あるいは広い領域にわたつての出血の場合には、通常のコラーゲン質包帯材は不適當である。そこで、コラーゲン、あるいはゼラチンのようなコラーゲン質物質を、レゾルシノール・ホルムアルデヒドに基づいた接着剤を用いて組織に結合させようという試みが行われてきた。このような接着剤は止血性を有する一方、それが組織に刺戟を与えるため実用には適用しない。このことはアクリレート接着剤およびそれとコラーゲン質包帯材との組合せの場合も同様である。
- 15 体内におけるコラーゲンは結合組織の成分と交差結合していることが知られている。この結合プロセスでは、コラーゲンはシッフ塩基およびアルドール縮合を経て交差結合される。更に、基礎膜では組織の結合力は基礎膜コラーゲンのS-S架橋によつて強化されていることが知られている。また、アルブミンのような分子間S-S結合を有する蛋白質は温和な還元が続いて酸化することによりS-S架橋が行われることも知られている。
- 25 傷害に際しては、血液の凝固が傷口の第1次閉鎖を形成する。これは血漿凝固の末期相における

凝集血小板およびフィブリン網状体によるものである。個々のフィブリン分子はグルタミン転移酵素により交差結合することも知られている。この過程において、新しいペプチド結合がグルタミン酸とリジンの間の隣接分子鎖間で形成される。フィブリン結合の技術により、即ち、フィブリノーゲンと凝固酵素トロンビンを用いることによつて、血漿性血液凝固の末期相が模倣される。

広い領域にわたる出血はフィブリン結合のみでは抑制することはできない。これはフィブリン結合と再吸収性のあるコラーゲン質包帯材との組合せによつてはじめて可能となる。しかしながら、これには次の3つの成分が用意されなければならない。即ち、コラーゲン質包帯材、抗繊維素溶解酵素剤を有するトロンビン、および凍結濃縮フィブリノーゲン溶液の解凍直後ですぐ使用できるものの3つである。出血はしばしば突然に予期しない時に起るものであるから、上記3成分のうちのフィブリノーゲン成分は決定的な時点で使用可能な形で手に入らないことがよくある。凍結フィブリノーゲン溶液を、少なくともまず解凍しなければならないからである。更に、手当てに用いる前の混合が比較的複雑である。

本発明の目的は、組織と癒着（膠着）し、かつ、再吸収性コラーゲンと組合せたフィブリン結合の場合の上記の欠点を有しない、コラーゲン質包帯材を提供することにある。この目的と結びついて、局部的出血に対する改良されたコラーゲン質包帯材が提供される。

本発明は、フィブリノーゲン、SH基で改質されたゼラチン、SH基で改質されたコラーゲンおよびSH基で改質された再生オキシセルロースからなる群より選ばれた再吸収性生体高分子を0.5~10mg/cm²の範囲で含有し、かつ、コラーゲンの純度が窒素-ヒドロキシプロリン係数で4未満であることを特徴とする、組織癒着性コラーゲン質包帯材である。

コラーゲンとフィブリノーゲンまたはSH基で改質されたゼラチン、もしくは同様に改良されたコラーゲン、もしくは同様に改質されたオキシセルロースとは、凍結乾燥によつて有利に相互に組合せることができる。しかしながら、コラーゲンとSH基改質コラーゲンとの組合せの場合には、コラーゲン中にSH基を導入することによつても

可能である。

以下、本発明をコラーゲンとフィブリノーゲンとの組合せの場合について説明するが、ここでフィブリノーゲンは前記再吸収性生体高分子、即ち、SH基で改質されたゼラチン、SH基で改質されたコラーゲン、もしくはSH基で改質されたオキシセルロースに代わるものである。

フィブリノーゲンの使用は時々肝炎を惹起するという問題が提起されている。勿論この問題は、フィブリノーゲンではなく、反応性SH基を有する他の生体高分子を導入することによつて完全に回避することができる。そのようなSH基を含む生体高分子は、SH基で改質されたゼラチン、SH基で改質された再生オキシセルロース、あるいはSH基で改質されたコラーゲンである。

コラーゲン中へのSH基の導入は、それ自体公知の手段で達成することができる。例えば、“proceedings of the National Academy of the United States, Washington, D.C.” vol.44 (1958), pp.848~853にBeneschおよびBeneschによつて述べられている方法に従うことができる。

しかしながら、SH基のコラーゲン中への導入は、SH基で改質されたゼラチン、もしくは同様に改質された再生オキシセルロースをコラーゲン上に沈着させるか、またはグラジエント・ミキサー（gradient mixer）を用いてコラーゲンと混合することによつて達成することができる。ゼラチンはコラーゲンから化学分解または酵素分解によつて得られ、従つて同一の化学組成を有している。従つて、SH基で改質されたゼラチンを有するコラーゲン質包帯材は、これらの材料中のSH基の故に酸化架橋を起し得るという利点に加えて、本質的にコラーゲンの性質も有している。

本発明によるコラーゲン質包帯材は、それ自体公知のやり方で薬理活性物質を包含せしめることができる。

包帯材として用いられるコラーゲンは通常のパッケージの形態、即ち、ガーゼ、布、スポンジ等の形態を有する。

用いられるコラーゲンの純度は窒素-ヒドロキシプロリン係数（nitrogen-to-hydroxyproline factor）で表わして4未満、好ましくは3未満である。ヒドロキシプロリンはコラーゲン中にのみ

生ずるので、コラーゲンの純度に対する尺度となる。

再吸収性のある生体高分子は組織癒着性コラーゲン質包帯材中に0.5から10mg/cm²の範囲、好ましくは4から6mg/cm²の範囲で存在する。再吸収性生体高分子の1分子当りのSH基の数は広い範囲で変化させ得る。平均分子量が約40000のゼラチンの場合、それは約2から7で、平均は約5であり、他の再吸収性生体高分子の場合も同程度である。

コラーゲンはゲンタマイシンのような抗生物質に対する賦形剤としての使用に適していることが知られている。テトラサイクリンその他の抗生物質または化学療法剤もSH基で改質されたコラーゲン中に混入させ得る。これは本発明の包帯材によつて知られる付加的効果である。

コラーゲン類の調整

すべての色素層および筋肉残渣を取除いた新鮮な牛の腱を破砕均等化し、乾燥重量で100gに相当する量を0.05Mクエン酸緩衝液 (pH3.7) 3ℓ中で24時間抽出し、次いで1%酢酸に対して12時間透析した。

1%酢酸3ℓ中に懸濁された組織は、コラーゲン対ペプシンの比が50:1のペプシンと共に、常に攪拌しながら15°Cで48時間保温された。

全体を1%酢酸で5ℓに希釈し、溶解しなかつた腱の細片を遠心分離によつて除去した。

粘潤なコラーゲン溶液はアルカリ性にした水道水 (pH8.0) に対して透析され、次いで激しく遠心分離された。残渣は再び1%酢酸5ℓに溶解され、透析された。この操作を窒素-ヒドロキシプロリン係数が3以下になるまで繰返された。最終透析の後、0.05%酢酸を用いて1.5%コラーゲン溶液が調製され、このものが以下に述べるテストに使用された。

SH-改質ゼラチン、SH-コラーゲン、またはSH再生オキシセルロースの調製

2%ゼラチン溶液 (対応処方として、1.5%コラーゲン溶液または50gのコラーゲンもしくは再生オキシセルロースの懸濁液に対して適用される) 1000mlをpH7.0で318mgのN-アセチルホモシステインチオラクトンと混合し、次いで340mgのAgNO₃を加えた。溶液はNaOHの添加によりpH7.0に維持される。

2時間後、1NのHClでpHを2.5に調節し、チオ尿素を過剰に添加した。陽イオン交換体を用いて銀イオンを除去し、溶液を窒素下で透析した。SH基-改質ゼラチンの1%溶液およびSH-改質コラーゲンの1%溶液が以下に述べるテストのために調製された。

改質オキシセルロースは凍結乾燥によつて脱水された。

ファイブリンノーゲン溶液の調製

バルクで市販されている無菌ファイブリンノーゲンを無菌蒸留水に溶解し、溶液1ml当りファイブリンノーゲン50mgの溶液を得、これを次に述べるテストに用いた。

実施例 1

コラーゲン/ファイブリンノーゲン含有包帯材の調製 (寸法: 約2.5×5.0cm)

放射線で無菌化された1.5%コラーゲン溶液のうち10mlを、隔膜を有する無菌フラスコに無菌条件下に導入し、ゆるやかに攪拌しながら冷却浴 (ドライアイス/エタノール) 中で深冷する。溶液の約2/3が凍つたら、コラーゲン/ファイブリンノーゲン溶液 (コラーゲン対ファイブリンノーゲン比=1:1) を5ml添加し、溶液の2/3が凍るまで深冷した。次いでファイブリンノーゲン溶液を5ml添加し、凍結し、凍結乾燥した。

実施例 2

コラーゲンおよびSH-改質ゼラチンを含有する包帯材の調製

1.5%コラーゲン溶液の10mlを隔膜を有するフラスコに導入し、冷却浴 (ドライアイス/エタノール) 中でゆるやかに攪拌しながら深冷した。溶液の約2/3が凍つたら、SH-改質ゼラチン溶液を5ml添加し、凍結し、凍結乾燥した。得られたスポンジは放射線で無菌化された。

実施例 3

ゲンタマイシン含有包帯材の調製

ゲンタマイシン含有包帯材を調製するには、100mgのゲンタマイシンを1%コラーゲン溶液100mlに添加し、この溶液を用いて、実施例1および2に述べたと同様にして、コラーゲン/ファイブリンノーゲン含有包帯材およびコラーゲン/SH-改質ゼラチン含有包帯材を調製した。

実施例 4

コラーゲンおよびファイブリンノーゲンを含有する

7

包帯材の調製

まず0.5～1%のコラーゲン溶液100mlを金属製の型中に注入し、常法により冷凍乾燥し、得られたスポンジを無菌化した。次いで、この無菌化コラーゲンスポンジに無菌条件下でフィブリノーゲン溶液を噴霧塗装し、コラーゲン表面cm²当り0.5

8

～10mgのフィブリノーゲンを沈着させた。再度冷凍乾燥し、無菌条件下に包装した。

本発明の改善された組織癒着性コラーゲン質包帯材は、臨床的に適正な期間内に再吸収が生ずる。本発明によれば、広い領域の傷、特に腹部領域の傷を手当するのに使用することができる。